

Untersuchungen zur Fremdproteinwirkung
auf die Leberfunktion
bei normalen und CCl_4 -geschädigten Kaninchen

Teilprogramm 1

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Siglinde Bruck
aus Berlin

Marburg 1967

**Untersuchungen zur Fremdproteinwirkung
auf die Leberfunktion
bei normalen und CCl_4 -geschädigten Kaninchen**

Teilprogramm 1



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Siglinde Bruck
aus Berlin

Marburg 1967



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 28.11.1967
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät .
Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert
Referent: Prof. Dr. med. N. Lang
Correferent: Prof. Dr. med. W. Schmid

INHALTSVERZEICHNIS
=====

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	5
B. <u>Methoden</u>	10
1) Immunisierung und verwendete Proteine bzw. Organextrakte	10
2) ICG-Dosis und ICG-Bestimmung im Serum	11
3) CCl_4 -Intoxikation	14
4) Ergebnisse zur Methodik	14
C. <u>Ergebnisse</u>	19
1) Wirkung von Fremdproteininjektionen auf die ICG-Clearance bei Tieren mit nor- maler Leberfunktion (mit C-GOT immuni- sierte und nicht vorbehandelte Tiere)	19
a) Human-Herzextrakt	20
b) Human-Milzextrakt	21
c) Human-Leberextrakt	21
2) Wirkung von CCl_4 auf die ICG-Clearance	27
a) Effekt einer einmaligen Intoxikation	27
b) Wiederholte Intoxikation	27
3) Wirkung von Fremdproteinen auf die ICG- Clearance bei CCl_4 -geschädigten Tieren	32
a) C-GOT	32
b) Human-Milzextrakt	35
D. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	39
E. <u>Zusammenfassung</u>	45
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	48

Im Text verwendete Abkürzungen :

Ak	= Antikörper
Ag	= Antigen
CCl ₄	= Tetrachlorkohlenstoff
C-GOT	= Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherz-Cytoplasma
H-Alb.	= Human-Albumin
HWZ	= Halbwertszeit
ICG	= Indocyanine Green (Cardio-Green [®])
i.p.	= intraperitoneal
i.v.	= intravenös
p.i.	= post injectionem
RES	= Reticulo-endotheliales System

A. EINLEITUNG

=====

Der Einfluß der Leberfunktionsstörung auf die Antikörper(Ak-)-Bildung ist von verschiedenen Autoren untersucht worden (7, 16, 19, 30, 57) ; Untersuchungen über den Effekt der Ak-Bildung auf die Leberfunktion existieren dagegen nicht.

Die Leber spielt eine Rolle im Ablauf immunologischer Prozesse. Sie kommt ständig mit den verschiedensten Antigenen und zirkulierenden Antikörpern in Berührung, die ihr über die Pfortader oder den großen Kreislauf zugeführt werden. In ihrem ausgedehnten Reticulo-endothelialen System kommt es zu Ag-Verarbeitung und Ak-Bildung (33). Außerdem ist die Leber das wichtigste Organ für den chemischen Umbau von Giften im Organismus (34).

Zunächst sollte an immunisierten und nicht immunisierten Kaninchen festgestellt werden, ob und in welchem Maße menschliche Organextrakte zu einer Funktionsverbesserung der Leber führen. Es gibt ja kaum ein Kapitel in der experimentellen (5,24,31,37,44,46,53,55,56) und klinischen (1,12,15,17,25,27,32,35,40,41,43,47,51,52,59,62) Medizin, das so umstritten ist wie die Therapie mit Organen und Organextrakten.

Um 1950 waren z.B. Leberextraktpräparate wie Prohepar (Extrakt aus roher Leber), Ripason (protein-

freier, wasserlöslicher Lebertotalextrakt) oder Neohepatex die anscheinend erfolgreichste Therapie der protrahiert verlaufenden Hepatitis mit Übergang in das chronische Stadium und in die beginnende Lebercirrhose (27). Es wurde eine Besserung der Leberfunktionsproben, der Bluteiweißverhältnisse, des Allgemeinbefindens und Appetites, ein günstiger Einfluß auf die Diurese, Abnahme des Ascites und Serum-Bilirubins beobachtet. Außerdem wurde bei experimentellen Allgemeininfektionen durch Leberhydrolysat ein weitgehender Schutz vor der Intoxikationswirkung gefunden (62). Im Tierversuch kam es unter der Wirkung eines Leberextraktes zu einer Schutzwirkung gegen eine nachfolgende CCl_4 -Intoxikation .

Der Wirkungsmechanismus ist dabei noch keinesfalls geklärt. Kalk und Wildhirt (27) halten es für möglich, daß der Folsäure und dem Vitamin B_{12} eine besondere Wirkung zukommt. Nach Beckmann (1) kommt es möglicherweise zu einer anregenden und steigernden Wirkung auf das Regenerationsvermögen der Leber .

Herzmuskelextrakte sind in den letzten Jahren eingehend pharmakologisch und klinisch geprüft worden. Sie haben eine koronargefäßerweiternde Wirkung und verbessern die Leistungsfähigkeit des ischämischen Herzens sowohl tierexperimentell als auch klinisch (51) .

Die Wirkung des Milzextraktes wurde von Kaiser und Mitarbeitern (28) eingehend untersucht. Es wurde ein signifikanter Einfluß des verwendeten „Prosplens“ auf die Leucocyten und Plasmacorticoide gefunden und der Beweis einer direkten Wirkung auf die Nebenniere und das endokrine System im Sinne einer Regulierung zur Norm erbracht. Von Ungar (60) wurde beobachtet, daß Milzextrakt eine aktive Substanz enthält, die denselben Effekt wie die Milz in vivo hat. Diese aktive Substanz konnte isoliert werden und ist wahrscheinlich ein Teil des Anti-Enzym-Systems, das Proteine gegen Trypsin schützt. Rein (49) konnte im Tierversuch zeigen, daß im Plasma des Milzvenenblutes aktive Stoffe enthalten sind, die der Leber zugeführt werden und die Schädigung des Herzens durch überkritische Coronardrosselung verzögern oder wenn sie bereits eingetreten, wenigstens teilweise beheben können.

In dieser Arbeit sollen Human-Leber-, -Herz- und -Milzextrakte nur in ihrer Wirksamkeit auf die Leberfunktion untersucht werden. Als Maß für die exkretorische Funktion der Leberparenchymzellen soll der Einfluß einer Fremdproteininjektion auf die Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün (ICG) gewertet werden - ein Farbstoff, der gegenüber dem bisher meist verwendeten Bromsulphalein (BSP) [6,10,20,26,29,39,45,50,64] viele Vorzüge hat.

ICG ist von Brooker entwickelt und durch Fox (9,13, 65) eingeführt worden. Es ist in wäßriger Lösung unstabil (23,65) und auch im Serum nicht länger als 24 Stunden haltbar (eigene Beobachtung). ICG wird schnell und vollständig an Plasmaproteine gebunden (8,13,65), fast ausschließlich von den Leberparenchymzellen aufgenommen (21,23) und mit der Galle ausgeschieden (8,22,65); eine Reabsorption durch den Darm oder die Leberlymphe besteht nicht (22,65). Die Aufnahme durch extrahepatische Gewebe ist so gering, daß sie vernachlässigt werden kann und zu keiner Verfälschung der Ergebnisse führt (8,22,45). Die Lichtabsorption von ICG ist bedeutend intensiver als die von BSP. Haemolyse stört nicht bei der Messung. Das Verschwinden des Farbstoffes aus dem Blut folgt einer einfachen exponentialen Funktion bei Menschen und Hunden, nicht jedoch bei Ratten und Kaninchen (21,22).

An CCl_4 -geschädigten Tieren soll die Wirkung einer einmaligen Injektion eines gereinigten Fremdproteins (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherz-Cytoplasma) gezeigt werden. Tetrachlorkohlenstoff ist als Lebergift gut bekannt (3,24,37,44,53,55,56), sein Wirkungsmechanismus aber nur teilweise abgeklärt. Im Experiment wird es immer wieder angewendet, da es das Studium der spontanen Regeneration des geschädigten Leber-

parenchyms, sowie die vorbeugende und heilende Wirkung vieler Stoffe und Medikamente ermöglicht. Uns interessierte die Frage, ob ein Fremdprotein und die damit in Gang gesetzte Bildung von Antikörpern eine Leberschädigung vermindern oder sogar verhüten kann. Wilde untersuchte bereits 1942 die Wirkung von Gonococcenvaccine auf die gonotoxisch geschädigte Leber und fand dabei eher eine Verbesserung als eine Verschlechterung (67). Auch Vega und Mallen (38,61) sahen keinen schädigenden Einfluß auf die Leberfunktion durch allergische Phänomene. Wachter (62) beobachtete im Experiment einen weitgehenden Schutz gegen Pneumococcen- und Paratyphus-Infektionen durch Leberhydrolysat .

8. METHODEN

=====

1) Immunisierung und verwendete Proteine bzw. Organextrakte.

Bei 45 Kaninchen untersuchten wir den Einfluß einer einmaligen intravenösen Injektion (Erstinjektion und Boosterung) heterologer Proteine auf die Indocyanine-Green-Clearance. Gruppen von 4-6 Tieren wurden mit einem isolierten Protein oder mit Human-Organextrakten immunisiert. Als isoliertes Protein benutzten wir Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherz-Cytoplasma (C-GOT der Firma C.F. Boehringer, Mannheim) in einer Dosis von 0,2 mg ohne Adjuvans.

Die Organextrakte wurden sofort verarbeitet und wie folgt hergestellt: 1 g frisches Humanorgan wurde mit 5 ml Aqua dest. 4 x 1/2 Minute homogenisiert, das Homogenat 20 Min. in der Kühlzentrifuge (10-13000 Umdrehungen/Min.) abzentrifugiert, der Überstand 2 x 4 Stunden gegen Phosphatpuffer (pH 7) dialysiert, erneut 20 Minuten abzentrifugiert und der Überstand meist sofort (z.T. aber auch erst nach 2 oder 23 Tagen) in einer Dosis von 0,2 ml/kg Körpergewicht i.v. injiziert. Der Proteingehalt des Leberextraktes betrug durchschnittlich 0,95 %, der des Herzextraktes 1,3 % und der des Milzex-

traktes 1,9 % .

Die vorimmunisierten Tiere hatten über 3 Wochen 2 x wöchentlich 0,1 ml C-GOT (mit einem Eiweißgehalt von i.a. 0,2 mg) zusammen mit Aluminiumhydroxydgel als Adsorbens intraperitoneal erhalten, etwa eine Woche nach der letzten i.p.-Injektion eine i.v.-Injektion ohne Adsorbens und evtl. später in größeren Abständen einzelne i.v.-Auffrischungsinjektionen.

2) ICG-Dosis und ICG-Bestimmung im Serum.

ICG wurde in einer Dosis von 1 mg/kg (=0,2 ml/kg) Körpergewicht in die Ohrvene injiziert. Die ICG-Extinktion im Serum wurde im Eppendorf-Photometer (Photozelle 90r, 1mm Küvette bei 772 m μ = die dem Extinktionsmaximum von 805 m μ im E.-Photometer nächstgelegene Wellenlänge) gemessen. Eine Extinktion von 0,1 entspricht einer Serumkonzentration von 6,7 mg ICG/Liter .

Die Änderung der ICG-Clearance unter dem Einfluß der Immunisierung wurde mit den spontanen intraindividuellen Schwankungen in einer Kontrollgruppe von 14 nicht immunisierten Kaninchen verglichen (Abb.1), indem der Abfall des ICG-Serumspiegels nach i.v.-Injektion von 1 mg ICG/kg Körpergewicht in Abständen von 2 Tagen bis 11 Wochen untersucht wurde .

Abb.1) Streuung der ICG-Normalkurven

(= ICG-Clearance bei Tieren ohne Vor- und Nachbehandlung) an verschiedenen Untersuchungstagen, jeweils ein Versuch an einem Tier.

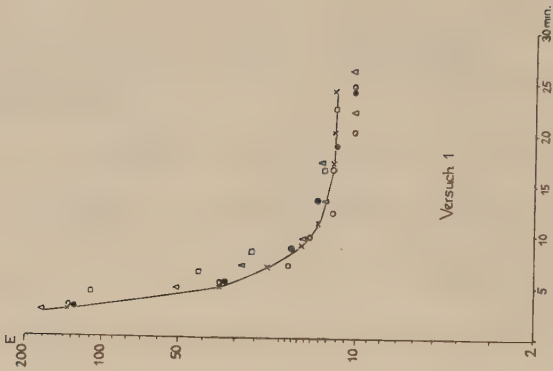
X—X = ICG-Ausgangskurve

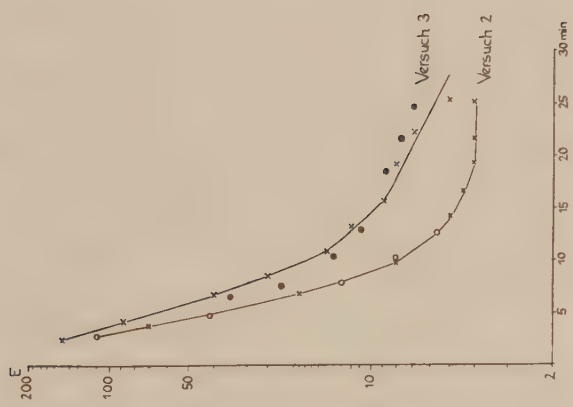
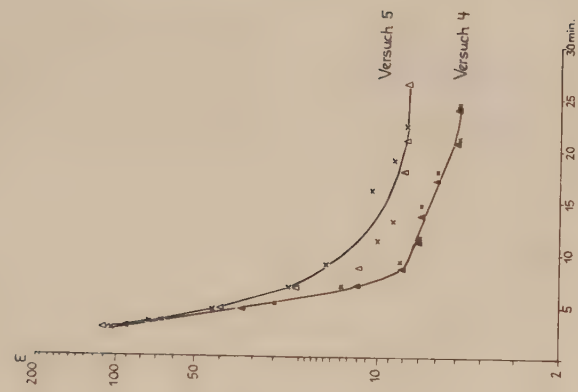
Versuch 1) Kurven im zeitlichen Abstand von 2, 4, 6 und 13 Tagen.

Vers.2)u.3) Kurven im 14-Tages- und 1-Monatse Abstand.

Vers.4)u.5) Kurven im Abstand von 2 Monaten und 11 Wochen.

(In diesen sowie in allen folgenden Abbildungen entspricht $E=100$ einer Extinktion von 0,100)





3) Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation.

Zur Untersuchung des Einflusses einer akuten Leberschädigung auf die ICG-Clearance allein und unter Immunisierung injizierten wir den Tieren (nach Ermittlung der ersten ICG-Serumkurve = ICG-„Normalkurve“) 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht intraperitoneal. Dabei war der Effekt sehr unterschiedlich. Einige Tiere (v.a. ältere) zeigten eine nur sehr geringe Verschlechterung der ICG-Clearance, andere dagegen (v.a. junge Tiere) gingen 1 bis 6 Tage nach der CCl_4 -Injektion ein (ungef. 20 %) .

4) Ergebnisse zur Methodik.

Es war eingangs notwendig, die geeigneten Bedingungen zum ICG-Nachweis im Serum am Eppendorf-Photometer zu ermitteln. Bei 772 m μ und Verwendung der Küvette mit einem Millimeter Durchmesser und der Photozelle 90r fand sich eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und ICG-Serumspiegel . Ein Unterschied zwischen der Messung im Serum und Plasma bestand nicht .

Der ICG-Serumspiegel wurde nach verschiedenen Dosen verfolgt. Dabei erwies sich die Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht (=0,2 ml/kg) als maßtechnisch besonders günstig und wurde in allen weiteren

Versuchen angewandt.

Die Blutentnahmen erfolgten alle 2-3 Minuten über einen Zeitraum von zunächst 1 Stunde. Später beschränkten wir uns auf 25-30 Minuten, da sich nach dieser Zeit keine Änderung der ICG-Extinktion im Serum zeigte.

Bei unbehandelten Tieren wurde die intra- und interindividuelle Streuung der Serumspiegelwerte untersucht. Die zu verschiedenen Zeiten bei einem Tier gewonnenen Kurven (intraindividueller Vergleich) stimmten erstaunlich gut überein (s.Abb.1 sowie die Punkte a1 und a2, b1 und b2, c1 und c2, d1 und d2 in Abb.6, S.26), selbst wenn zwischen den Untersuchungen Monate vergangen waren. Dabei fanden sich aber , wie der Vergleich zwischen diesen Abbildungen zeigt, von Tier zu Tier unterschiedliche Typen der ICG-Serumkurven. Für einen repräsentativen Teil der Normalversuche aller Tiere (9 von 80 Versuchen) zeigt die Abb.2 diese interindividuellen Kurvenabweichungen ; für jedes Tier ist nur eine Kurve dargestellt.

Die Kurven lassen bei halblogarithmischer Darstellung meist 2-3 Phasen abnehmender Steilheit, d.h. zunehmender Halbwertszeit (HWZ) erkennen, wobei die letzte Phase nur bei einem Teil der Tiere annähernd waagrecht verläuft, was man auf eine begrenzte ICG-Aufnahme bzw. Speicher-

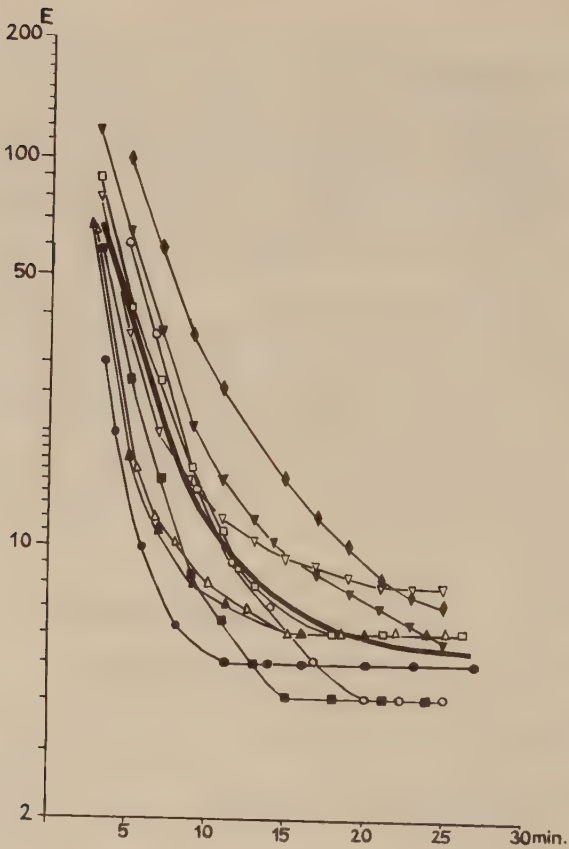


Abb.2) Streuung der ICG-Normalkurven. Der Übersichtlichkeit halber sind die ICG-Kurven von nur 9 (von 80) Tieren eingezeichnet. Die durchschnittliche ICG-Clearance (von 12 Tieren ohne Vor- und Nachbehandlung = „Normaltiere“) ist als dick ausgezogene Kurve hervorgehoben.

kapazität der Leber beziehen kann. Die HWZ des steilen Kurventeils von der 3. bis zur 10. Minute p.i. (= Phase a), die in einer positiven Korrelation zur absoluten ICG-Extinktion im Serum 10 Min. nach der Injektion steht (s. Abb.6), werteten wir als Maß für die Aufnahmekapazität, die HWZ des flachen Kurvenverlaufes von der 15. zur 20. Minute p.i. (= Phase b) als Kriterium der Exkretionsfähigkeit der Leber für ICG .

Unter einer akuten Leberschädigung mit CCl_4 verlaufen die ICG-Serumkurven nicht nur bei höheren Extinktionen als sonst, sondern von ungefähr der 3. Minute ab nahezu geradlinig (s. Abb.7, S.28) ; anscheinend ist hier die ICG-Aufnahmefähigkeit der Leber stärker gestört als die Exkretionsfähigkeit, so daß es nicht zu dem beschriebenen Sättigungsplateau kommt .

Anders als der Einfluß der CCl_4 -Schädigung scheint sich dagegen der einer Bilirubin-Simultaninjektion auf die ICG-Clearance auszuwirken. Wie Abb.3 an 2 Versuchstieren zeigt, kommt es bei gleichzeitiger Injektion einer zunehmenden Bilirubin-Dosis zu zunehmender Anhebung des Plateaus , nicht aber zur Kurven-„Glättung“ mit Plateauverlust. Das bedeutet offensichtlich eine stärkere Beeinträchtigung der ICG-Exkretion als der ICG-Leberaufnahme durch Bilirubin .

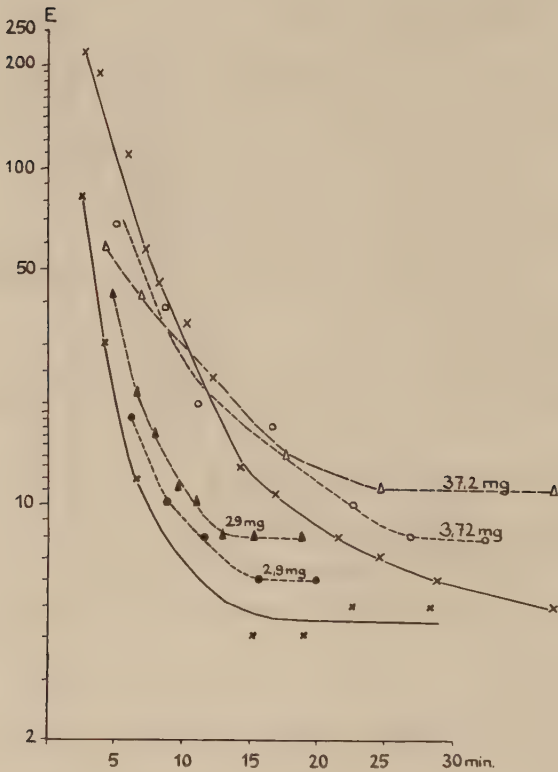


Abb.3) Wirkung von unterschiedlichen Bilirubin-
Dosen (s. Kurven) auf die ICG-Clearance
bei zwei Tieren. Bilirubin wurde gleich-
zeitig mit ICG injiziert.

x—x = ICG-„Normalkurve“

C. ERGEBNISSE.

=====

1) Wirkung von Fremdprotein-Injektionen auf die ICG-Clearance bei Tieren mit normaler Leberfunktion.

Wie eine Paralleldissertation (Benisch) zeigt, bewirkt die Injektion gereinigter Proteine, nämlich von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (C-GOT der Firma Boehringer, Mannheim) , Human-Albumin und Human-Gammaglobulin eine deutliche Verbesserung der ICG-Clearance .

Während nach Schweineherz-C-GOT bei Dosen von 0,2 mg Protein/0,1 ml v.a. ein Soforteffekt zu verzeichnen war, der z.T. 6 Wochen lang anhielt, zeigte sich bei Dosisverdoppelung (0,4 mg Protein/0,2 ml) das Maximum der ICG-Clearance konstant erst am 4. oder 5. Tag post injectionem ; die Kurven erreichten ungefähr am 10. Tag p.i. wieder den ursprünglichen Verlauf. Bei noch höherer Dosis (0,8 mg Protein/0,4 ml) konnte eine so konstante Verbesserung der ICG-Clearance nicht festgestellt werden .

Bei Injektion von 0,4 mg Human-Albumin wurde ebenfalls bereits 5 Minuten p.i. eine deutliche Verbesserung der ICG-Clearance festgestellt, das Max. der Verbesserung aber erst (in je einem Ver-

such) am 2. und 8. Tag. Eine Kontrolle 5 und 8 Wochen p.i. zeigte, daß der Ausgangswert wieder erreicht war.

Auch 0,4 mg Human-Gammaglobulin intravenös bewirkten z.T. einen Soforteffekt mit Maximum der ICG-Clearance am 8. Tag.

Bei allen diesen Versuchen war der Effekt der Reinproteine auf die ICG-Clearance unabhängig davon, ob es sich um eine Erstinjektion oder Boosterung handelte.

Unsere Versuche mit Human-Organextrakten an 32 Tieren (Injektion von jeweils 0,2 ml/kg Körpergewicht i.v.) zeigten unterschiedliche Ergebnisse (s. Tab.1 , S. 25)

a) Human-Herzextrakt bewirkte bei 5 mit C-GOT immunisierten Tieren in 2 Fällen keine Änderung, in einem Fall nur eine leichte Verbesserung der ICG-Clearance in der Phase b (flacher Kurvenverlauf zwischen 15. und 20. Minute p.i.) und in zwei Fällen eine deutliche Verschlechterung. In 5 weiteren Versuchen an nicht mit C-GOT immunisierten Tieren zeigte sich ebenfalls dreimal keine Änderung und zweimal eine Verschlechterung der ICG-Clearance. Die verwendeten Extrakte waren z.T. ganz frisch, z.T. 23 Tage alt.

b) Mit Human-Milzextrakt (Abb.4) fanden wir in einer ersten Versuchsreihe bei 2 mit C-GOT immunisierten und 3 nicht immunisierten Tieren eine deutliche Verbesserung der ICG-Clearance, die sich jedoch in einer zweiten Versuchsreihe mit 7 Tieren nur an 2 immunisierten Tieren zeigen ließ, während sich bei den übrigen Tieren die ICG-Clearance nicht änderte, in einem Fall sogar fraglich verschlechtert wurde. Die Extrakte waren in allen Fällen ein oder zwei Tage alt.

c) Die Wirkung von Human-Leberextrakt (Abb.5) untersuchten wir an 10 Tieren. In einer ersten Versuchsreihe mit 7 Tieren zeigte sich bei mit C-GOT immunisierten Tieren viermal eine Verbesserung und einmal keine Änderung der ICG-Clearance, bei zwei nicht immunisierten Tieren beidesmal eine Verbesserung. In diesen Versuchen war der Extrakt ein bis zwei Tage alt.

In einer zweiten Versuchsreihe mit 3 nicht immunisierten Tieren bewirkte ein ganz frischer Extrakt keine Änderung der ICG-Clearance.

Abbildung 6 zeigt die Verbesserung der ICG-Clearance durch Reinproteine und Human-Leberextrakt im Vergleich zur intra- und interindividuellen Abweichung in Kontrollversuchen ohne Fremdproteininjektion (s. die Punkte im Rechteck) .

Abb. 4a)

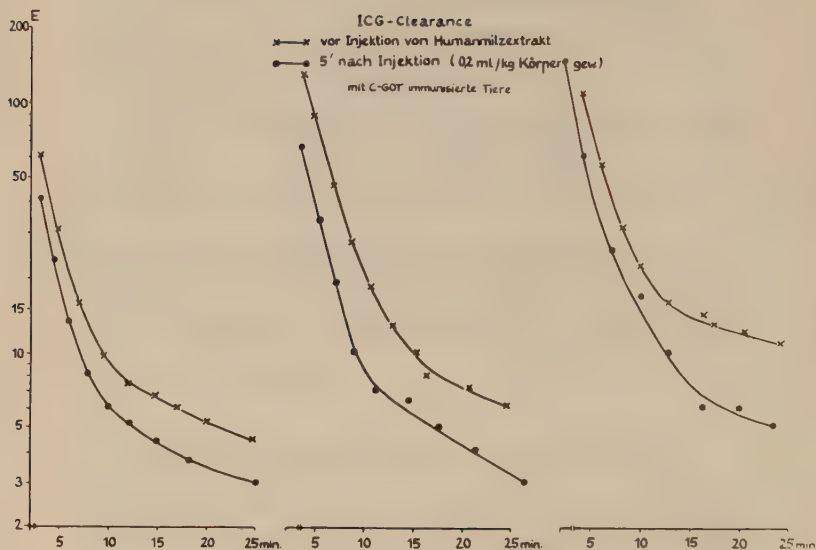


Abb. 4b)

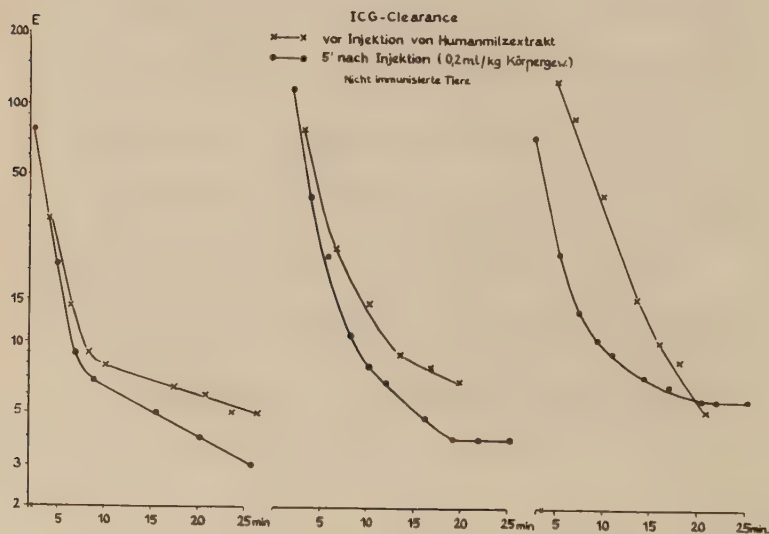


Abb. 5a)

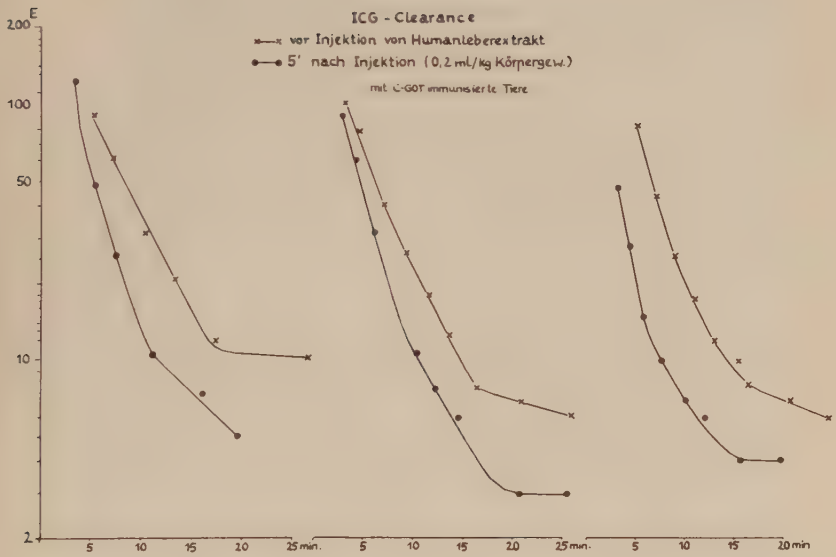


Abb. 5b)

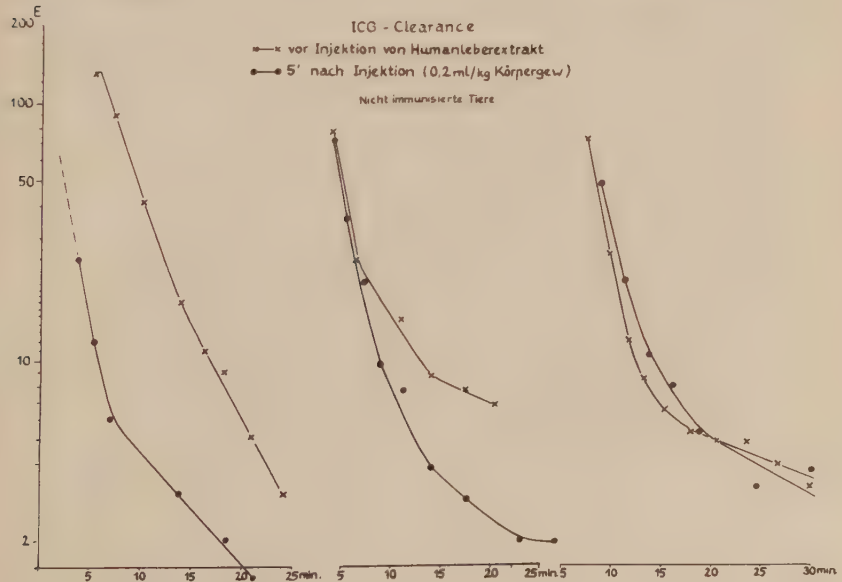


Abb.4) Wirkung von Human-Milzextrakt (0,2 ml/kg Körpergewicht intravenös) auf die ICG-Clearance bei 3 mit C-GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherz-Cytoplasma der Firma Boehringer, Mannheim) immunisierten (4a) und 3 nicht immunisierten (4b) Tieren.

Abb.5) Wirkung von Human-Leberextrakt (0,2 ml/kg Körpergew. i.v.) auf die ICG-Clearance bei 3 mit C-GOT immunisierten (5a) und 3 nicht immunisierten (5b) Tieren.

Tab.1) An je 10 Tieren wird die Wirkung von Human-Leber- und -Herzextrakt, an 12 Tieren die Wirkung von Human-Milzextrakt (einschließlich der Versuche aus den Abbildungen 4 und 5) auf die ICG-Clearance gezeigt . Es wurden jeweils 0,2 ml Organextrakt/kg Körpergewicht i.v. injiziert. Der Proteingehalt des Leberextraktes betrug ungef. 0,95%, der des Herzextraktes 1,3 % und der des Milzextraktes 1,9 % . Das Alter des Organextraktes in Tagen ist in Klammern gesetzt.

Tab.1)

	ICG-Clearance		
	keine Änderung	Verbesserung	Verschlechterung
10 Versuche mit H-Herzextrakt an 5 mit C-GOT immun. Tieren und 5 nicht immunisierten Tieren	2 (1) 3 (1)	1 (23)	2 (1) 2 (1)
12 Versuche mit H-Milzextrakt : 1.Versuchsreihe mit 5 Tieren : 2 immunisiert 3 nicht immun. 2.Versuchsreihe mit 7 Tieren : 6 immunisiert 1 nicht immun.	3 (1) 1 (1)	2 (2) 3 (2) 2 (1)	1 (1)
10 Versuche mit H-Leberextrakt : 1.Versuchsreihe mit 7 Tieren : 5 immunisiert 2 nicht immun. 2.Versuchsreihe mit 3 nicht immun. Tieren	1 (1) 3 (1)	4 (2) 2 (2)	

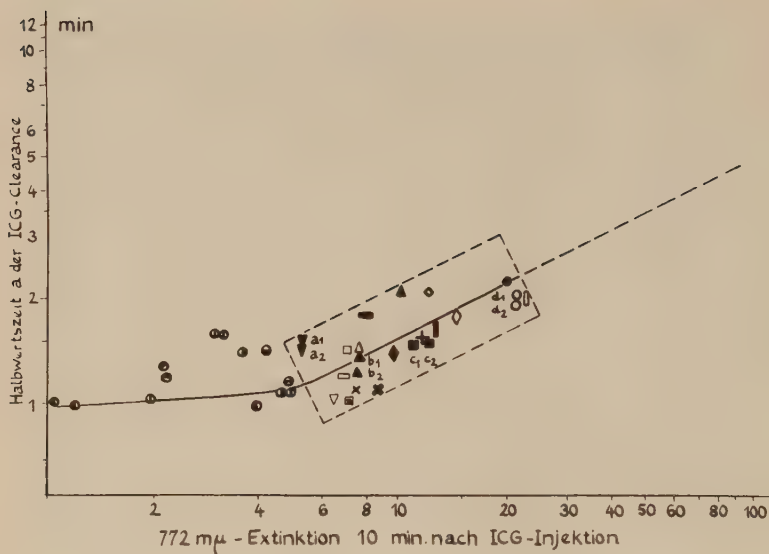


Abb.6) Beziehung der Halbwertszeit a der ICG-Clearance zur ICG-Extinktion 10 Minuten nach Injektion bei Normaltieren (eingerahmter Teil) und Tieren, denen Human-Leberextrakt und Reinproteine (C-GOT , Human-Gammaglobulin und -Albumin) intravenös injiziert wurde (jedes Zeichen entspricht einem Tier).

- ① 4 Tage nach i.v.-Inj. von 0,1 ml C-GOT
- ⊖ 2 Tage nach i.v.-Inj. von 0,2 ml C-GOT
- ⊙ 5 Tage nach i.v.-Inj. von 0,4 mg H-Alb.
- 5 Min. nach i.v.-Inj. von 0,4 mg H-Gammaglob.
- ⦿ 5 Min. nach i.v.-Inj. von 1,0 ml H-Leberextr.

2) Wirkung von CCl_4 auf die ICG-Clearance.

a) Effekt einer einmaligen Intoxikation.

In einer ersten Versuchsreihe injizierten wir bei 9 Kaninchen je 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht intraperitoneal und verfolgten die ICG-Clearance über einen Zeitraum von 14 bis 31 Tagen (Abb.7). Dabei fanden wir eine erhebliche Verschlechterung der ICG-Ausscheidung (mit Kurventypänderung, s. Besprechung der Ergebnisse), die im Durchschnitt am 6. Tag nach der CCl_4 -Injektion ihr Maximum erreichte, dann kontinuierlich zurückging und nach ungef. 3 Wochen wieder die Position der Ausgangskurve erreichte, danach z.T. noch eine reaktive Clearanceverbesserung gegenüber der Ausgangskurve zeigte.

b) Wiederholte Intoxikation.

Einem Tier injizierten wir 6 Wochen nach der ersten CCl_4 -Injektion (= Abb.12, S.36), nachdem sich die ICG-Clearance wieder normalisiert hatte, ein zweites Mal 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht intraperitoneal (Abb.9). Dabei zeigte sich eine stärker erhöhte Retention von ICG als bei der ersten CCl_4 -Intoxikation, wohl als Ausdruck einer latenten Leberschädigung durch die frühere Injektion. Am 12. Tag p.i. lag die ICG-Kurve noch über der ent-

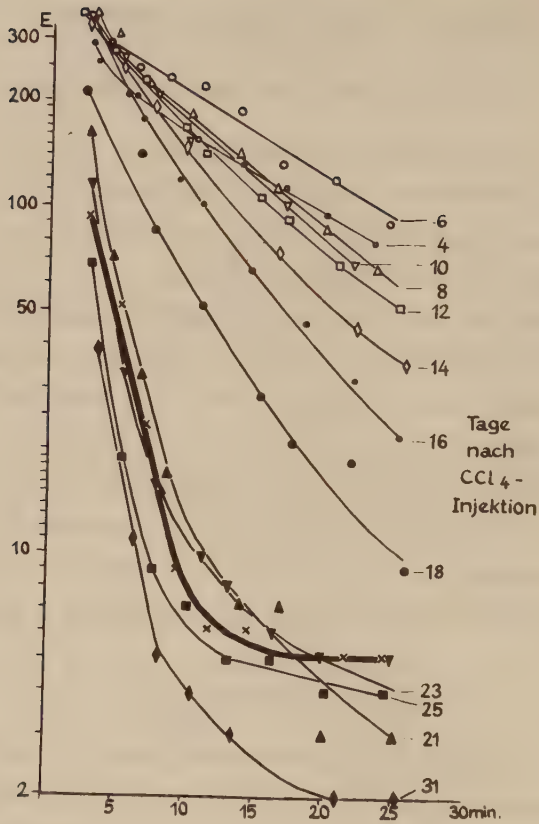


Abb.7) Wirkung von 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht i.p. auf die ICG-Clearance über einen Zeitraum von 31 Tagen.

x — x = ICG-Clearance vor CCl_4 -Intoxikation

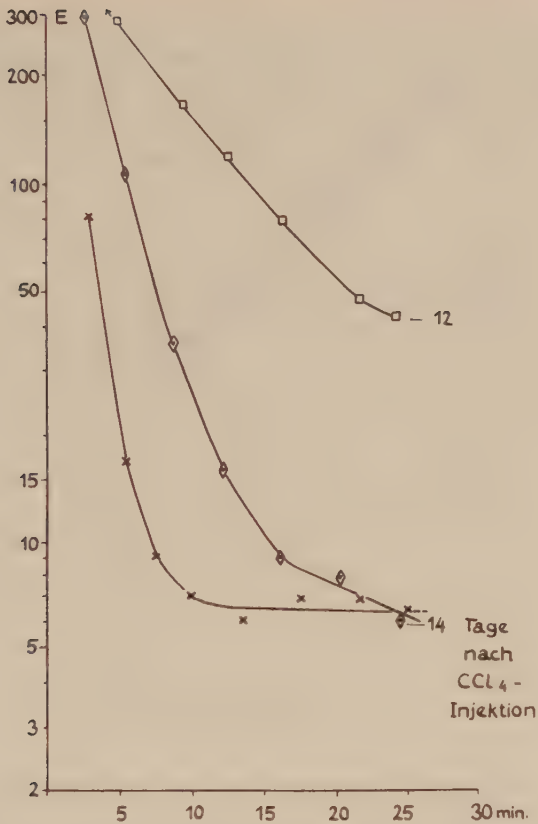


Abb.8) Wirkung von 0,1 ml C-GOT auf die ICG-Clearance bei einem nicht mit C-GOT immunisierten Tier am 14.Tag nach Leberschädigung mit 1 ml CCl₄/kg Körpergewicht i.p. C-GOT wurde 5 Min. vor ICG injiziert.
 X—X = ICG-Clearance vor CCl₄-Intoxikation.

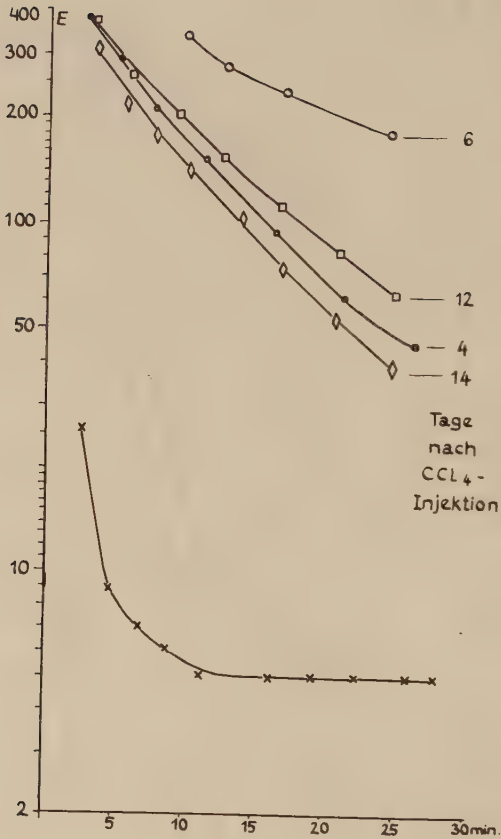


Abb.9) Wiederholte Leberschädigung mit 1 ml CCl_4/kg Körpergewicht i.p. bei einem mit C-GDT immunisierten Tier, nachdem sich die ICG-Clearance nach der 1. CCl_4 -Schädigung (die 6 Wochen zurückliegt) wieder normalisiert hatte (x-x)

sprechende Kurve nach der ersten CCl_4 -Schädigung ;
am 15. Tag ging das Tier ein.

Tab. 2)

Tage nach CCl_4	ICG-Extinktion 24 Min. p.i.	
	1. CCl_4 -Intox.	2. CCl_4 -Intox.
4	24	55
6	65	190
9	48	
11	55	
12		65
13	14 (nach Inj. v. H-Milzextrakt)	
14		40

Tab.2) zeigt an einem Tier die 24-Minutenwerte der ICG-Extinktion zwischen dem 4. und 14. Tag nach einer ersten (Abb.12) und zweiten Leberschädigung (Abb.9) mit 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht i.p. ; zweite CCl_4 -Injektion 6 Wochen nach der ersten, nachdem die ICG-Clearance wieder den Ausgangswert erreicht hatte.

3) Wirkung von Fremdproteinen auf die ICG-Clearance
bei CCl₄-geschädigten Tieren.

a) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

In einer zweiten Versuchsreihe wurden bei 9 nicht mit C-GOT immunisierten Tieren am 14. Tag nach CCl₄-Schädigung 0,2 mg Protein/0,1 ml C-GOT 5 Minuten vor ICG intravenös injiziert (Abb.8 und 10-12). Dabei zeigte sich in 7 Fällen eine deutliche Verbesserung der ICG-Clearance, wie sie bei CCl₄-geschädigten Tieren ohne C-GOT-Injektion (1. Versuchsreihe) in keinem Fall beobachtet wurde. In der Hälfte der Fälle wurde durch die GOT-Injektion am 14. Tag bereits der Ausgangswert der ICG-Clearance erreicht, was bei CCl₄-geschädigten Tieren ohne C-GOT-Injektion durchschnittlich erst nach 3 Wochen erfolgte.

In 9 Versuchen ohne Antigenwirkung betrug die (spontane) Verbesserung der ICG-Clearance vom 12. zum 14. Tag (Extinktion nach 10 Minuten) je einmal 25, 17 und 8 % , in den übrigen Fällen etwa 0 % . Die Verbesserung in 9 Versuchen mit C-GOT-Injektion am 14. Tag (5 Minuten vor ICG injiziert) betrug je einmal 90, 84, 63, 52, 50 32 und 30 % ; nur in zwei Versuchen war hier eine Clearance-Verbesserung nicht nachweisbar .

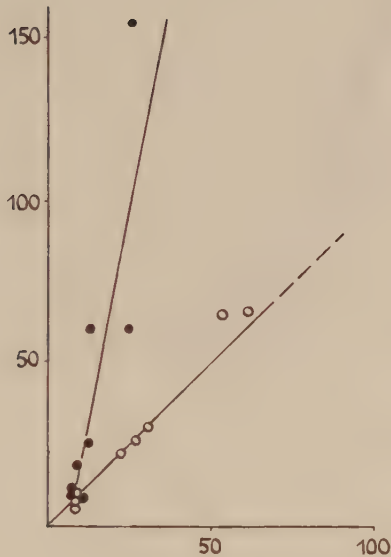


Abb.10) ●-● Wirkung von 0,1 ml C-GOT i.v. auf die ICG-Clearance am 14.Tag nach CCl_4 -Schädigung (1 ml/kg Körpergew. i.p.) bei 8 nicht mit C-GOT immunisierten Tieren .

○-○ Kontrollgruppe von 8 Tieren ohne C-GOT-Injektion am 14. Tag .

Ordinate: Ext. 5 Min. nach ICG-Injektion
am 12.Tag nach CCl_4 -Intoxikation.

Abszisse: Ext. 5 Min. nach ICG-Injektion
am 14.Tag nach CCl_4 -Intoxikation.

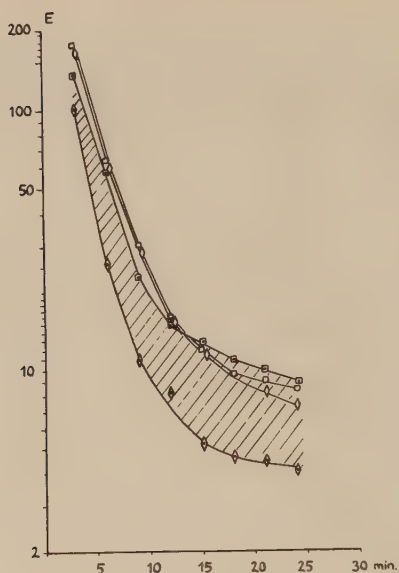


Abb. 11) Durchschnittliche ICG-Clearance von 3 Tieren (Gruppe 1)

□—□ am 12.Tag nach Leberschädigung mit 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht i.p. und

◇—◇ am 14.Tag ohne zwischenzeitlich zusätzliche Einwirkung (vgl. aber Gruppe 2) .

Durchschnittliche ICG-Clearance von 4 nicht mit C-GOT immunisierten Tieren (Gruppe 2)

○—○ am 12.Tag nach Leberschädigung mit 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht i.p. und

◇—◇ am 14.Tag , aber nach zwischenzeitlicher i.v.-Injektion von 0,1 ml C-GOT .

Die schraffierte Fläche zeigt die Wirkung von C-GOT .

In Abbildung 11 wird an den 7 Tieren, die am 12. Tag nach der CCl_4 -Injektion eine ähnliche ICG-Clearance haben, gezeigt, daß sich die durchschnittliche ICG-Ausscheidung bei den 3 Tieren ohne C-GOT-Injektion am 14. Tag noch nicht geändert hat, während die durchschnittliche ICG-Clearance der vier Tiere, denen am 14. Tag 5 Minuten vor ICG 0,2 mg Protein/0,1 ml C-GOT i.v. injiziert wurde, deutlich verbessert ist. Zu einer gesicherten Aussage bedarf es jedoch einer Ergänzung der Versuche.

b) Human-Milzextrakt

In einer dritten Versuchsreihe injizierten wir bei 3 nicht mit C-GOT immunisierten Tieren am 13. (Abb.12) und 16. Tag nach CCl_4 -Schädigung (Abb.13, 1 von 2 Versuchen) je 1 ml Human-Milzextrakt i.v. (5 Minuten vor ICG). Dabei zeigte sich in allen drei Fällen eine wesentliche Verbesserung der ICG-Clearance im Vergleich zu den Kontrollversuchen ohne Fremdprotein-Injektion.

Wenn der Ausgangswert am 14. Tag in Abbildung 13 auch tiefer liegt als in den Kontrollversuchen, so zeigt sich die Wirkung des Milzextraktes auf die Leberfunktion doch daran, daß die ICG-Kurve am 16. Tag (5 Minuten nach Organextrakt-Injektion)

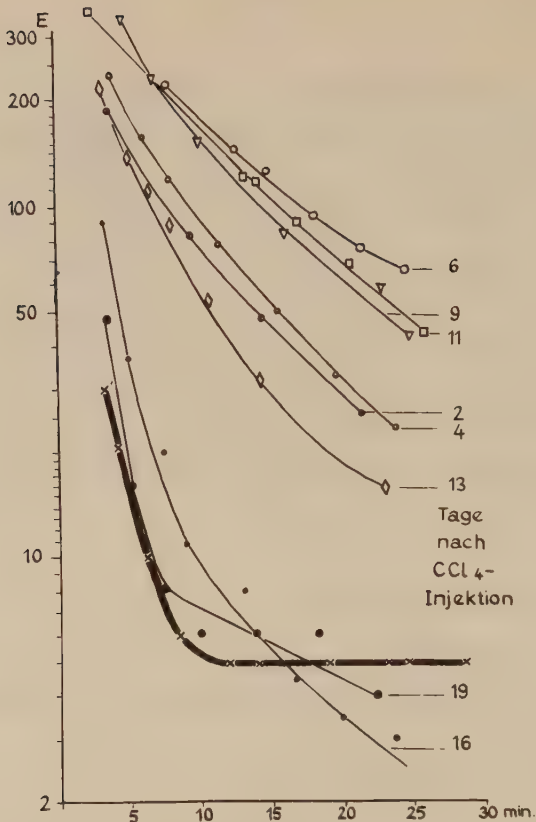


Abb.12) ICG-Clearance zu verschiedenen Zeiten (s. Kurven) nach 1 ml CCl₄/kg Körpergew. i.p. unter zusätzlichem Einfluß von Fremdproteininjektionen (i.G. zu den sonst analogen Versuchen der Abb.7) .

x — x = ICG-Clearance vor CCl₄-Intoxikation .

Am 13.Tag wurden 5 Min. vor ICG 0,2 ml Human-Milzextrakt/kg Körpergew. i.v. injiziert

Am 16.Tag wurden 5 Min. vor ICG 0,2 mg Protein/0,1 ml C-GOT i.v. injiziert .

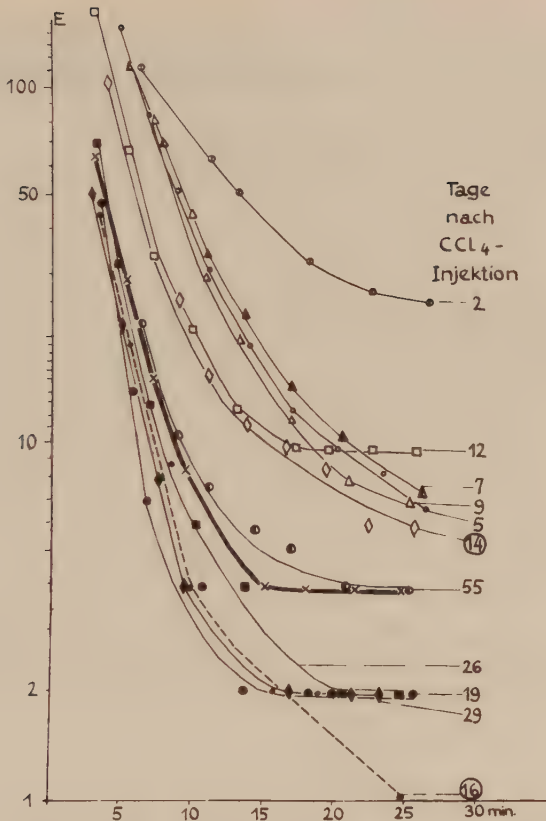


Abb.13) Wirkung von 0,2 ml Human-Milzextrakt/kg Körpergew. i.v. auf die ICG-Clearance bei einem nicht mit C-GOT immunisierten Tier am 16.Tag nach Leberschädigung mit 1 ml CCl_4 /kg Körpergewicht i.p.

x — x = ICG-Clearance vor CCl_4 -Intoxikation .

bereits deutlich unter der Normalkurve (ICG-Clearance bei nicht vorbehandelten Tieren) liegt, was wir in den Kontrollversuchen in dem Ausmaß frühestens nach 31 Tagen beobachteten (s. Abb.7, S.28) .

Während es also sowohl beim normalen als auch beim akut lebergeschädigten Tier unter dem Einfluß einer Mikrogrammdosis eines Fremdproteins konstant zu einer beschleunigten ICG-Elimination aus dem Blut kommt, bewirkt ein Organextrakt (mit relativ höherer Fremdprotein-Zufuhr) nur bei einem Teil der Versuche eine ICG-Clearanceverbesserung.

Das Verhältnis von ICG-Clearanceverbesserung zu gleichbleibender ICG-Clearance zu Clearanceverschlechterung beträgt in den Organextraktversuchen

bei Leber 6 : 4 : 0

bei Milz 7 : 4 : (1)

bei Herz (1): 5 : 4 ,

ist also nur bei den beiden erstgenannten Organen zu erwarten, nämlich eine Clearanceverbesserung in 13 von 22 Versuchen gegenüber einer fraglichen Verschlechterung in nur einem Versuch .

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE.

=====

Die i.v.-Injektion von Fremdproteinen bei Kaninchen führte zu einem Anstieg der ICG-Verschwinderate aus dem Serum sowohl bei unbehandelten als auch bei CCl_4 -geschädigten Tieren; dabei war die Abweichung nach Fremdproteininjektion größer als die maximale intraindividuelle Abweichung in Kontrollversuchen ohne Fremdproteininjektion .

Die Ergebnisse können auf verschiedene Weise erklärt werden :

Gegen die Annahme, daß die injizierten Fremdproteine die Leberparenchymfunktion durch einen Eintritt in die Leberzellen direkt stimulieren, spricht die Tatsache, daß kleinere Antigendosen einen größeren Einfluß auf die ICG-Verschwinderate haben als höhere Dosen (s. Paralleldissertation Benisch), obwohl hier mehr Antigen von den Leberzellen aufgenommen werden dürfte, wie Untersuchungen von Crampton und Haurowitz (11) mit einem anderen Antigen wahrscheinlich machen .

Auch eine Erklärung der Befunde durch alleinige Stimulierung der mesenchymalen RES-Zellen durch Proteine erscheint unwahrscheinlich, da lösliche Farbstoffe (ICG, Bengalrosa, Bilirubin) ausschließlich durch die Parenchymzellen aufgenommen werden ;

eine solche Erklärung würde im Übrigen besagen, daß die ICG-Clearance nicht nur ein Test der exkretorischen Leberfunktion ist, sondern auch eine Aussage über die Aktivität des RES erlaubt .

Eine wahrscheinlichere Erklärung ist die einer funktionellen Wechselbeziehung zwischen parenchymalem und mesenchymalem Gewebe ; eine Aktivitätssteigerung des mesenchymalen Reticuloendothels durch verschiedene Proteine scheint über eine verbesserte Leberdurchblutung, die ja ein guter Maßstab für die Leberfunktion ist (58), zu einer Parenchymstimulation der Leberzellen zu führen . Bei der Rolle des Leberparenchyms im Protein-Intermediärstoffwechsel erscheint die beobachtete Parenchymstimulation als Adaption an die mit dem Antigen-Eintritt ins Reticuloendothel avisierten Aufgaben, den Abbau von Antigen-Bruchstücken und die Bereitstellung von Bausteinen zur Antikörpersynthese. Der über Wochen anhaltende Fremdprotein-Effekt zeigt sein Maximum vor dem maximalen Anstieg zirkulierender Antikörper (s. Paralleldissertation Benisch) und weist auf ein Funktionsgleichgewicht zwischen Mesenchym und Parenchym hin .

Die spezifische Parenchymfunktion läßt sich durch ICG besonders gut untersuchen (21, 23) , da es gegenüber anderen Farbstoffen u.a. den Vor-

teil hat, daß es zu keiner oder zu einer nur sehr geringen Aufnahme durch extrahepatische Gewebe kommt (8, 21, 22, 65), was von Piller (45) mit der schlechten Dialysierbarkeit in vitro in Zusammenhang gebracht wird. Gegenüber Bromsulphalein hat ICG außerdem den Vorteil, daß die Lichtabsorption intensiver ist (22) und daß die Meßergebnisse durch Haemolyse nicht verfälscht werden .

Bei dem beobachteten GOT-Effekt handelt es sich nur um die Beeinflussung einer Partialfunktion der Leber ; während die ICG-Elimination in 12 von 13 Versuchen nach GOT-Injektion verbessert wurde, zeigte sich keine sichere Beeinflussung der J^{131} -Bengalrosa-Elimination (s. Paralleldissertation Benisch). Allerdings ist Bengalrosa ein Gemisch aus mehreren Komponenten (4) und konnte auch nicht in einer dem ICG äquimolaren Dosis injiziert werden .

Nach CCl_4 -Intoxikation fiel auf, daß die (sonst biphasisch) verlaufende ICG-Kurve die zweite flache Phase meist nicht erkennen ließ ; offensichtlich ist hier die Aufnahmefähigkeit der Leber für ICG stärker gestört als die Exkretionsfähigkeit . Strietzel und Mitarbeiter (54) fanden bei der Leberfunktionsprüfung mit Bengalrosa ebenfalls, daß die Serumclearance-Kurven

Lebergesunder nach unten durchhängend verlaufen , während sie sich mit zunehmender Störung einer Geraden nähern .

Bei Injektion verschiedener Bilirubin-Dosen dagegen fanden wir nur eine Anhebung des Plateaus, aber keine „Kurvenglättung“ . Es scheint, daß hier die ICG-Exkretion durch die Leber stärker gehemmt wird als die ICG-Aufnahme .

Die Wirkung von Organextrakten ist eine, besonders nach 1950, viel diskutierte Frage in der experimentellen und klinischen Therapie (s. Einleitung) . Wenngleich die therapeutisch angewendeten Präparate i.a. proteinfrei sind, ist doch die unbeabsichtigte Verabfolgung von Partialantigenen und in manchen Fällen auch Antigenspuren bei den aus Organen anderer Spezies gewonnenen Extrakten nicht immer ausgeschlossen. Es war deshalb zu klären, wie weit bei dem von verschiedenen Autoren unterschiedlich beurteilten (und offensichtlich variablen) Effekt solcher Präparate immunologische Phänomene mit eine Rolle spielen könnten .

Die Wirkung von Leberextrakten auf die chronisch erkrankte Leber wird als eine Art Substitutionsbehandlung aufgefaßt (15 und Wildhirt, zitiert in 59), bei der die Leber die zu ihrem Aufbau erforderlichen Bausteine zugeführt bekommt, ohne daß eine nähere Analyse der wirksamen Faktoren bisher

Vorliegt .

Auch die therapeutische Wirkung von Milzextrakten ist vorläufig noch unklar und beruht vielleicht auf einer Stimulierung unspezifischer Abwehrkräfte (Weinreich, zit. in 59). Kaiser, Rindt und Zimmermann erbrachten den Beweis einer direkten Wirkung des Milzextraktes auf die Nebennieren und das endokrine System im Sinne einer Regulierung zur Norm (28) .

Für die Behandlung mit Herzmuskelextrakten wird auf Grund physiologischer Untersuchungen behauptet, daß ein Stoffwechseleffekt vorhanden ist, der als Ersatztherapie bei darniederliegendem Stoffwechsel aufgefaßt wird ; außerdem wurde eine Erweiterung der Koronargefäße durch Herzmuskelextrakt experimentell nachgewiesen; die Adenosinverbindungen sollen nicht die alleinigen Wirkstoffe der Herzextrakte sein (v. Braun, Wigand und La Barre, zit. in 59) .

Aus unseren Versuchen , bei denen die Wirkung von Organextrakten nur auf die Leberfunktion geprüft wurde , läßt sich sagen, daß es durch Milz- und Leberextrakte (mit einem Proteingehalt von 1,9 % bzw. 0,95 % in etwa gleicher Häufigkeit (in 7 von 12 bzw. 6 von 10 Fällen) zu einer Funktionsverbesserung und nie zu einer Verschlechterung (gemessen an der ICG-Clearance) kam, während Herz-

extrakte (mit einem Proteingehalt von 1,3 %) keine Verbesserung, sondern wiederholt eine Verschlechterung der Leberfunktion bewirkten .

Durch eine einmalige Applikation von Human-Organextrakten wurde also im Gegensatz zu einem gereinigten Fremdprotein eine weniger konstante Verbesserung (wobei Milz- und Leberextrakt denselben Effekt zeigten) der Leberfunktion hervorgerufen, obwohl bei Injektion von durchschnittlich 1 ml Human-Organextrakt die Proteindosis 4,7 bis 9,5 mal höher war als bei den Versuchen mit C-GOT. Es scheint, daß bei einmaliger Injektion eines Organextraktes bei normalen Tieren neben dem parenchymstimulierenden Einfluß der Antigenwirkung keine zusätzlichen Faktoren mitspielen ; letztere sind allenfalls bei einer Langzeittherapie von chronischen Lebererkrankungen objektivierbar, z.B. durch Adenosinderivate, Phosphorlipide, Aminosäuren (55, 59), Folsäure oder Vitamin B₁₂ (27, 55) .

E. ZUSAMMENFASSUNG

=====

- 1) Wir untersuchten den Einfluß intravenös injizierter Human-Organextrakte auf die Indocyanine-Green(ICG-)-Leberaufnahme und -exkretion sowie den Einfluß eines gereinigten Fremdproteins auf die ICG-Clearance bei CCl_4 -geschädigten Tieren. Sowohl beim normalen als auch beim akut lebergeschädigten Tier kommt es nach einer Mikrogrammdosis eines Fremdproteins öfters zu einer beschleunigten ICG-Elimination aus dem Blut.
- 2) Injektion von Human-Milzextrakt bewirkte bei 7 von 12 Tieren eine erhebliche Verbesserung der ICG-Clearance, viermal keine Änderung und nur einmal eine fragliche Verschlechterung.
- 3) Auch in 6 von 10 Versuchen mit Human-Leberextrakt wurde eine Verbesserung der ICG-Clearance nachgewiesen, eine Verschlechterung in keinem Fall.
- 4) Injektion von Human-Herzextrakt bewirkte nur in einem von 10 Fällen eine leichte Beschleunigung des ICG-Blutspiegelabfalles 15 bis 20 Minuten post injectionem, in 5 Fällen keine Änderung und in 4 Fällen eine deutliche Verzögerung der ICG-Clearance.

- 5) Die Ergebnisse schienen unabhängig davon zu sein, ob frische oder ältere Organextrakte verwendet wurden und ob es sich um eine Protein-Erstinjektion oder um eine Boosterung handelte .
- 6) Die Intoxikation mit CCl_4 bei 9 Tieren bewirkte erwartungsgemäß (3, 24, 37, 44, 53, 55, 56) eine erhebliche Verschlechterung der ICG-Clearance mit einem Maximum meist am 6. Tag ; die ICG-Ausgangskurve wurde i.a. erst gegen Ende der 3. Woche p.i. erreicht ; z.T. zeigte sich nach einem Monat sogar eine reaktive Clearanceverbesserung gegenüber der Ausgangskurve .
- 7) Bei einer wiederholten Schädigung mit CCl_4 beobachteten wir eine stärker erhöhte Retention von ICG als bei der ersten CCl_4 -Injektion , wohl als Ausdruck des Fortbestehens einer latenten Leberschädigung .
- 8) Eine Steigerung der ICG-Elimination durch Antigen-Injektion ließ sich auch unter der CCl_4 -Intoxikation nachweisen . Bei 7 von 9 mit CCl_4 geschädigten Tieren bewirkte eine Mikrodosis von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherz-Cytoplasma (C-GOT) , meist am 14. Tag injiziert, eine ICG-Clearanceverbesserung und eine beschleunigte Rückkehr der ICG-Clearance zur

Norm gegenüber 9 Kontrolltieren ohne Fremdproteininjektion ; die Tiere, bei denen die C-GOT-Injektion zu keiner Verbesserung der ICG-Clearance führte, hatten bereits am 12.Tag einen dem Ausgangswert angenäherten Kurvenverlauf . Injektion eines Human-Milzextraktes am 13. bis 16.Tag schien (nur 3 Versuche) die gleiche Wirkung zu haben .

- 9) Die Ergebnisse können durch eine funktionelle Gleichstellung des mesenchymalen und parenchymalen Lebergewebes erklärt werden , wobei die Aktivierung der RES-Zellen durch Antigene von einer Stimulierung der Leberparenchymzellen (gemessen an ihrer exkretorischen Funktion für ICG) begleitet wird .

F. LITERATURVERZEICHNIS

=====

- 1 Beckmann, K.
Therapiewoche 2.Jg.,H.1, 256 (1951)
Neueste therapeutische Erfahrungen bei Leber-
krankheiten.
- 2 Benacerraf, B., M.Sebestyen, N.S.Cooper
J. Immun. 82, 131-137 (1959)
Entfernung von Antigen-Antikörperkomplexen aus
dem Blut durch das RES.
- 3 Bengmark S. and R.Olssen
Proceedings of the Society for exp. Biology and
Medicine 109, 258 (1962)
Glutamic Pyruvic Transaminase in Rat Liver after
single Injection of Carbon Tetrachloride.
- 4 Bioerck, G., Gardell, S., Carlberger, G. and
Maurman, L.
Nature 185, 847 (1960)
Excretion of Rose Bengal in Bile.
- 5 Burri, M.
Experimentia 9, 385 (1953)
Zur tierexperimentellen Prüfung eines neuen Le-
bertotalextraktes.
- 6 Carbone, J.V., Grodsky, G.M., and Hjelte, V.
J. Clin. Invest. 38, 1989 (1959)

- Effect of hepatic dysfunction on circulating levels of sulfobromophthalein and its metabolites.
- 7 Cherrick, G.R., L.Pothier, J.-J.Dufour, S.Sherlock
New Engl. J. Med. 261, 340-342 (1959)
Immunologic response to tetanus toxoid inoculation in patients with hepatic cirrhosis.
- 8 Cherrick, G.R., S.W.Stein, C.M.Leevy, Ch.S.Davidson
J. of Clin. Invest. 39¹, 592-599 (1960)
Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction.
- 9 Cherrick, G.R., S.W.Stein, C.M.Leevy, Ch.S.Davidson
Clin. Res. 7, 290 (1959)
Indocyanine green clearance : A test of liver excretory function .
- 10 Combes, B., and Stakelum, G.S.
J. Clin. Invest. 39, 1214 (1960)
Conjugation of sulfobromophthalein sodium with glutathione in thioether linkage by the rat .
- 11 Crampton, Ch.F. and F.Haurowitz
J. Immunol. 69, 457-459 (1952)
Deposition of small doses of injected antigen in rabbits .
- 12 Douglas, B.E., A.M.Snell
Gastroenterology 15, 407-425 (1950)
Portal cirrhosis: an analysis of 444 cases with notes on modern methods of treatment .

- 13 Fox, I.J., Broocker, L.G.S., Heseltine, D.W.,
Essex, H.E., Wood, E.H.
Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 32, 478 (1957)
A tricarbo-cyanine dye for continuous recording
of dilution in whole blood independent of
variations in blood oxygen saturation .

- 14 Fox, I.J., Wood, E.H.
Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 32, 541 (1957)
Applications of dilution curves record from the
right side of the heart or venous circulation
with the aid of a new indicator dye .

- 15 Frankhauser, S.
„Praxis“, Schweizer Rundschau für Medizin
44.Jg., Nr.29, 665-668 (1955)
Zur Therapie chronischer Lebererkrankungen mit
einem Lebertotalextrakt .

- 16 Hadnagy, C. und F. Gyergyay
Z. Immun-Forsch. 115, 357-366 (1958)
Die Wirkung der hepatotoxischen Stoffe auf die
Antikörperbildung .

- 17 Hartmann, F.
Klin. Wschr. 31.Jg., H.29/30 , 720 (1953)
Versuche über die lipotrope Wirkung eines Le-
berextraktes .

- 18 Hauss, W.H., G.Junge-Hülsing, G.Manitz u. F.König
Dtsch. Med. Wschr. 88.Jg., Nr.16, 811-814 (1963)

Über die Aktivität des Mesenchymstoffwechsels
bei krankhaften Prozessen in der Leber .

- 19 Havens, W.P., R.M.Myerson and J.Klatchko
New Engl. J. Med. 257, 637-643 (1957)
Production of tetanus antitoxin by patients
with hepatic cirrhosis .
- 20 Higgins, F.E., Foulk, W.T., and Bollmann, J.L.
Gastroenterology 38, 194 (1960)
Column chromatography of bile, serum, and urine
after intravenous administration of sulfobromph-
thalein .
- 21 Hunton, D.B., Bollmann, J.L. and Hoffmann, H.N.
Proc. Mayo Clin. 35, 752 (1960)
2. Hepatic removal of indocyanine green .
- 22 Hunton, D.B., J.L.Bollmann, H.N.Hoffmann
J. of Clin. Invest. 40², 1648 (1961)
The plasma removal of indocyanine green and
sulphobromophthalein : effect of dosage and
blocking agents .
- 23 Hunton, D.B., J.L.Bollmann, H.N.Hoffmann
Gastroenterology 39, 713 (1960)
Studies of hepatic function with indocyanine green.
- 24 Jasinski, B.
Clinica Chimica Acta 4, 571 (1959)
Der Einfluß eines Leberextraktes (Ripason) auf
die Retentionsgröße von Vitamin B₁₂ (⁶⁰Co) bei

CCl_4 vergifteten Ratten und seine Bedeutung.

- 25 Jasinski, B.

Schweiz. Med. Wschr. 112-114 (1953), zit. im KZB
Recherches cliniques sur l'action d'un extrait
total de foie.

- 26 Javitt, N.B., Wheeler, H.O., Baker, K.J., Ramos,
O.L. and Bradley, S.E.

J. Clin. Invest. 39, 1570 (1960)

The intrahepatic conjugation of sulfobromoph-
thalein and glutathione in the dog.

- 27 Kalk, H., E. Wildhirt

Dtsch. Med. Wschr. 77², 1390-1393 (1952)

Untersuchungen zur Behandlung der chronischen
Hepatitis und der Lebercirrhose mit Leberextrak-
ten.

- 28 Kaiser, E., W. Rindt, W. Zimmermann

Acta Hepato-Splenol. 6, 321 (1964)

Die Rolle der Milz im endokrinen Geschehen.

1. Mitteilung: Hypophysen-Nebennierenrinden-Funk-
tionskreis unter dem Einfluß eines Milzextraktes.

- 29 Keith S. Henley, M.D. Friedrich W. Schmidt, M.D.
and Ellen Schmidt, M.D.

Progress in Liver Disease Ch.15, 216 (1961)

Newer Diagnostic Tests in Liver Disease.

- 30 Kent, G., H. Popper, A. Dubin and C. Bruce

Arch. Path. 64, 398-408 (1957)

The spleen in ethionine-induced cirrhosis. Its role in γ -globulin elevation

- 31 Krautwald, A., K.Voigt, P.M.Lübeck
Z. Ges. exp. Med. 129, 496 (1958)
Die Wirkungen verschiedener Leberhydrolysate auf experimentelle Leberschäden.
- 32 Kreutz, H.
Gastroenterologia 93, 300 (1960)
Über die Behandlung chronischer Lebererkrankungen mit Rohleberextrakt.
- 33 Kühn, H.A., J.Weinreich
Dtsch. Med. Wochr. 15, 723 (1964)
Immunologische Probleme bei chronischer Hepatitis und Lebercirrhose.
- 34 Kurz, H.
Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 164-179 (1964)
Die Permeation von Giften in die Leber.
- 35 Labby, D.H., R.E.Shank, H.G.Kunkel, Ch.Hoagland
J. amer. med. Assoc. 133, 1181-1190 (1947)
Intravenous therapy of cirrhosis of the liver.
- 36 Lang, N., S.Bruck and H.Bönisch
Intern. Arch. Allergy 28, 336 (1965)
Immunization and Excretory Function of the Liver.
Indocyanine Green Clearance after Injection of Heterologous Proteins in Rabbits.

- 37 Magyar, Richter, Balázs, Vécsei, Bán
Acta Hepato-Splenologica 5, 265 (1964)
Über die Wirkung von wäßrigem Leberextrakt und
Leberhydrolysat bei mit Tetrachlorkohlenstoff
vergifteten Ratten .
- 38 Mallen
J. Congr. Internat. d'Allergie 924-931 (1952),
zit. im KZB 143, 200 (1953)
Relaciones entre el funcionamiento hepatico y
las manifestaciones clinicas de allergia en el
hombre .
- 39 Metzler, C., Hoffbauer, F.W., and Benson, E.
J. Lab. and Clin. Med. 47, 519 (1956)
The corrected Bromsulfalein test . A comparison
with the cephalin-cholesterol flocculation test
and the thymol turbidity reaction in jaundiced
patients .
- 40 Morrison, M.
Rev. of Gastroenterology 15, 119-132 (1947)
Types of cirrhoses of the liver responsive to
treatment .
- 41 Morrison, M.
J. Amer. Med. Assoc. 134, 673-676 (1947)
New methods of therapy in cirrhosis of the liver.
- 42 Nicholson J.W. and E.H.Wood
J. of Lab. and Clin. Med. 38, 588-603 (1951)

Estimation of Cardiac Output and Evans Blue Space
in Man, Using an Oximeter .

43 Nissen, K.

Therapiewoche 2.Jg., H.1, 252 (1951/52)

Die Therapie der Hepatitis und ihre Folgezustände.

44 Papacharalampous, N.X.

Acta Hepato-Splenologica 1, 27 (1964)

Die Wirkung des Rohleberextraktes auf die durch
Tetrachlorkohlenstoff geschädigte Rattenleber .

45 Piller, M.

Schweiz. Med. Wschr. 93.Jg., Nr.30, (1963)

Eiweißbindung und Verteilung von Bromsulphalein
im Organismus .

46 Pilz, W.

Zeitschr. f. Orthop. u. ihre Grenzgeb. 100,
229-232 (1965)

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung
von Organextrakten auf Knorpelgewebe .

47 Ralli, Leslie, Stueck, Shorr, Rolson, Clark, Laken
Medicine 28, 301-332 (1949)

The course of cirrhosis of the liver in patients
with large doses of liver extract intravenously.
A study of 112 cases, 44 control cases, 68 cases
treated with liver extract intravenously .

48 Rapaport, E., Ketterer, S.G. and Wiegand, B.D.

- Clin. Res. 7, 289 (1959)
Hepatic clearance of indocyanine green.
- 49 Rein, H.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 253, 435 (1951)
Die Beeinflussung von coronar- oder hypoxie-be-
dingten Myocard-Insuffizienzen durch Milz und
Leber.
- 50 Richards, T.G., Tindall, V.R., and Joung, A.
Clin. Sc. 18, 499 (1959)
A modification of the bromsulphthalein liver
function test to predict the dye content of the
liver and bile.
- 51 Schimert, G.
Therapiewoche 1, 20 (1965)
Therapie der Herz- und Gefäßkrankheiten mit Or-
ganextrakten.
- 52 Siede, W., B. Walther
Dtsch. Arch. klin. Med. 202, 635 (1955)
Ergebnisse der Behandlung mit Rohleberextrakten
bei chronischen Leberkrankheiten.
- 53 Stiller, G.
Arzneimittelforschung 3, 127-129 (1953)
Zur antitoxischen Wirkung von Leberextrakten.
- 54 Strietzel, M., K. Hennig und H. Langer
Das Deutsche Gesundheitswesen 19. Jg., H. 16 ,
734-739 (1964)

Die Prüfung der Leberfunktion mit Bengalrosa.

- 55 Tanyol, H., M.H.F.Friedmann
Proc. Soc. exp. Biol. 106, 645 (1961)
Influence of a liver preparation on liver of
cats receiving carbon tetrachloride.
- 56 Tanyol, H., M.H.F.Friedmann, A.H.Grollmann,
J.T.Magee
Fed. Proc. 14, 152 (1955)
Protective Effect of a Protein-free Watersoluble
Liver Extract against Liver Damage Produced by
Carbontetrachloride
- 57 Tisdale, W.A.
Gastroenterology 40, 141-148 (1961)
Spontaneous colon bacillus bacteremia in
Laennec's cirrhosis.
- 58 Übersichten
Dtsch. Med. Wschr. 88.Jg., Nr.16, 847-852 (1963)
Über die Durchblutung der Leber.
- 59 Uhlenbruck, P.
Der Landrat 69, 181-186 (1965)
Die Therapie mit Organen und Organextrakten.
- 60 Ungar, G.
Endokrinology 37, 329 (1945)
Endocrine Function of the Spleen and its Partici-
pation in the Pituitary Adrenal Response to Stress.

- 61 Vega, Mallen
Gastroenterology 12, 959-965 (1949)
Studies on liver function and blood proteins
in allergic individuals.
- 62 Wachter, H.P.
Arzneimittelforschung 4, 203 (1953)
Der Einfluß von Leberhydrolysat auf den Ablauf
von Allgemeininfektionen.
- 63 Weinreich, J., W.Creutzfeldt, F.Kümmerle
Acta Hepato-Splenol. 7, 272 (1960)
Der Einfluß der Splenektomie auf die Leberfunk-
tion bei Leberzirrhosen.
- 64 Wheeler, H.O., Meltzer, J.I., and Bradley, S.E.
J. Clin. Invest. 39, 1131 (1960)
Biliary transport and hepatic storage of sulfo-
bromophthalein sodium in the unanesthetized
dog, in normal man, and in patients with hepa-
tic disease.
- 65 Wheeler, H.O., W.J.Cranston and J.I.Meltzer
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 99, 11 (1958)
Hepatic uptake and biliary excretion of indo-
cyanine green in the dog.
- 66 Wiegand, B.D., Ketterer, S.G., and Rapaport, E.
Am. J. Digest. 5, 427 (1960)
The use of indocyanine green for the evaluation
of hepatic function and blood flow in man.

67 Wilde

Dtsch. Med. Wschr. 1, 139 (1942)

Wird durch Vaccination mit Bakterienimpfstoff
die Leberfunktion beeinträchtigt?

68 Winkler, K. and N.Tygstrup

Skandin. J. of Clin. and Laboratory Invest.
No.3, Vol.12 (1960)

Determination of hepatic blood flow in man by
cardio green .

LEBENS LAUF
=====

Am 11.9.1941 wurde ich als Tochter des damaligen Referenten im OKW Dr. Eberhard Bruck und seiner Ehefrau Sighilt Bruck, geb. Matthaei in Berlin geboren. Im September 1947 wurde ich in die Fontane-Schule in Berlin-Friedenau eingeschult ; ab 1948 besuchte ich die Tewsschule in Berlin-Schlachtensee. Ostern 1953 wurde ich in die Droste-Hülshoff-Schule in Berlin-Zehlendorf aufgenommen, wo ich 1960 das Abitur bestand .

Im SS 1960 begann ich mit dem Medizinstudium in Marburg . Hier legte ich 1961 das Vorphysikum , 1962 das Physikum und 1966 das Staatsexamen ab.

Meine Heimatanschrift lautet :
Wedel / Holstein , Boockholtzstraße 13

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten Beckmann, Behrend, Berendes, Braun-Falco, Brück, Bücher, Cleve, Deicher, Dimroth, Dölle, Drawert, Exner, Gedigk, Golenhofen, Hamm, Hartmann, Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Jacob, Lang, Linneweh, Löhr, Mahr, Mann, Martini, Marx, du Mesnil de Rochemont, Niessing, Neubauer, Overbeck, Petry, Rohan, Sauer, Schiff,

Schleyer, Schmid, Schmidt, Schölmerich, Schwaiger,
Seidel, Siegert, Siess, Straub, Streicher, Walcher,
Würterle, Vogt .

